

PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ :

G01N 1/08 // C12Q 1/68, A22B 5/00,
G01N 33/12

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: **WO 99/61882**

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum:

2. Dezember 1999 (02.12.99)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/03075

(22) Internationales Anmeldedatum: 25. Mai 1998 (25.05.98)

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):
AGROBIOGEN GMBH [DE/DE]; Thalmannsdorf 25,
Larezhhausen, D-86567 Hilgertshausen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BREM, Gottfried [DE/DE];
Thalmannsdorf 25, Larezhhausen, D-86567 Hilgertshausen
(DE).

(74) Anwalt: STRAUS, Alexander, Kirschner & Kurig, Sollner
Strasse 38, D-81479 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB,
GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN,
MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK,
SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW,
ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES,
FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD,
TG).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR OBTAINING AND INITIALLY PREPARING TISSUE SAMPLES FOR MOLECULAR GENETIC DIAGNOSIS

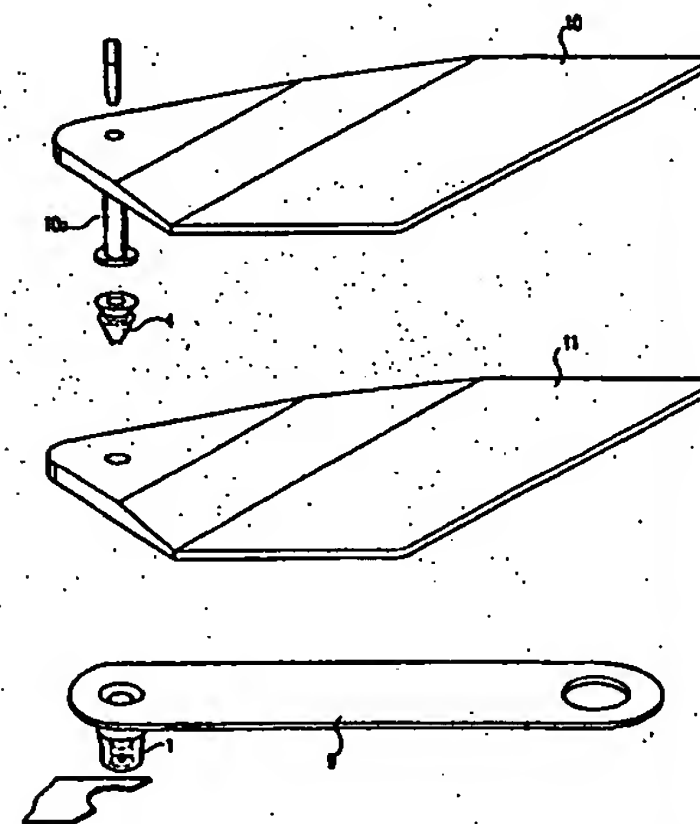
(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR GEWINNUNG UND ERST-AUFBEREITUNG VON GEWEBE-
BEPROBEN FÜR DIE MOLEKULARGENETISCHE DIAGNOSTIK

(57) Abstract

The invention relates to a device and a method for taking and initially preparing tissue, blood or other samples with cells or cell components containing a core or DNA for molecular genetic tests. The inventive device for obtaining and initially preparing samples containing cells with DNA comprises a sample container and means for obtaining the samples, said means being inserted in the sample container after the sample has been obtained and sealed inside said container. The sample container has a bottom and side walls and is closed with a lid that can be easily perforated. It also includes means for fixing the inserted sample obtaining means in an area of the container side walls distant from the bottom, whereby means for protecting against enzymes having a catabolic effect on the DNA are provided in the container, whereby the means for obtaining the sample are embodied in such a way that, once inserted in the sample container, said means are fixed in a stable manner to the means provided in the sample container for fixing which divides the sample container into at least one sample chamber delimited by the bottom and the side walls of the sample container and the front end of the sample obtaining means.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Entnahme und Erst-Aufbereitung von Gewebe/Blut oder anderen Proben mit Kern- bzw. DNA-haltigen Zellen oder Zellbestandteilen für die molekulargenetische Untersuchung. Die erfindungsgemäße Vorrichtung zur Gewinnung und Erst-Aufbereitung von DNA-haltige Zellen enthaltenden Proben umfaßt einen Probenaufnahmebehälter und Mittel zum Gewinnen der Probe, das nach Gewinnen der Probe in den Probenaufnahmebehälter eingeführt wird und diesen dichtend verschließt, wobei der Probenaufnahmebehälter ein Bodenteil und Seitenwände aufweist, mit einem leicht durchdringbaren Deckel verschlossen ist und in einem von dem Boden entfernt liegenden Bereich der Behälterseitenwände Mittel zum Fixieren des eingeführten Probengewinnungsmittels besitzt, wobei in dem Behälter Mittel zum Schutz vor DNA abbauenden Enzymen vorgesehen sind, wobei das Mittel zum Gewinnen der Probe derart ausgestaltet ist, daß es beim Einführen in den Probenaufnahmebehälter mit den am Probenaufnahmebehälter vorgesehen Mittel zum Fixieren ortsfest befestigt wird und den Probenaufnahmebehälter in mindestens einen Probenraum einteilt, der durch den Boden und die Seitenwände des Probenaufnahmebehälters und das vordere Ende des Probengewinnungsmittels begrenzt wird.



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss den PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldan	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Vorrichtung und Verfahren zur Gewinnung und Erst-Aufbereitung von Gewebeproben für die molekulargenetische Diagnostik

5

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Gewinnung und Erst-Aufbereitung von Gewebe/Blut oder anderen Proben mit Kern- bzw. DNA-haltigen Zellen oder Zellbestandteilen für die molekulargenetische Untersuchung. Die Erfindung betrifft weiter die Verwendung der hier beschriebenen Vorrichtung zur Typi-

10

sierung von Tierpopulationen.

Für diverse Forschungs- und Anwendungsprogramme ist die Gewinnung einer großen Anzahl von Gewebe- bzw. DNA-Proben notwendig. Dabei müssen unter bestimmten Umständen Informationen über ganzen (Nutztier)-Populationen oder regionale bzw. speziell charakterisierte Tierbestände (z.B. biologisch dynamische Tierproduktion) gewonnen werden.

15

20

So wurde beispielsweise ausgelöst durch den BSE-Skandal und die damit verbundenen Probleme die Herkunft von Fleisch und Produkten aus unbelasteten Betrieben zuzusichern eine EU-weite Kennzeichnungspflicht von Nutztieren eingeführt, wobei die Tiere bei oder kurz nach ihrer Geburt zur deren Kennzeichnung mit Ohrmarken versehen werden. Diese sind mit einer individuellen Nummer versehen, die das Nutztier kennzeichnen. So läßt sich durch spätere Überprüfung der Nummer beispielsweise im Schlachthof feststellen, aus welchen Betrieb das Tier stammt.

25

Diese Ohrmarken sind jedoch nicht fälschungssicher und können durch Manipulation ausgetauscht werden, so daß das eingeführte System der Kennzeichnung umgangen werden kann. Vom Verbraucher oder Zwischenhändler kann somit nicht sichergestellt werden, ob das Tier wirklich aus dem angegebenen Betrieb stammt.

30

Es wäre daher wünschenswert über ein einfaches analytisches Verfahren zu verfügen, das eine unabhängige Überprüfung der von Produzenten, Verarbeitern und Vermarktern gemachten Angaben ermöglicht.

35

Jedes Subjekt kann bekanntermaßen durch Untersuchung bestimmter DNA-Varianten als Individuum identifiziert werden ("genetischer Fingerabdruck"). In der Forensik, beispielsweise der Bestimmung eines Straftäters, und bei der Abstammungssicherung von

Zuchttieren werden diese innovativen molekulargenetischen Techniken bereits analytisch genutzt, wobei normalerweise eine Probe des Subjekts über Blutentnahme durch den Arzt gewonnen und der Analyse zugeführt wird. Dies ist jedoch für größere Populationen, insbesondere bei großen Tierbeständen zu aufwendig und hinsichtlich der damit einhergehenden Kosten vom ökonomischen Standpunkt nicht durchführbar.

Mittels moderner Nachweisverfahren (PCR, Sequenzierung, usw) läßt sich gegenwärtig bereits an kleinsten Gewebeproben nachweisen, ob diese von einem bestimmten Individuum stammen oder nicht. Der Nachweis kann relativ einfach mit einer Zuverlässigkeit von über 99,9% geführt werden.

Der personelle und finanzielle Aufwand für eine gezielt und separat durchgeführte Gewinnung, Asservierung, Katalogisierung, Archivierung und Analyse solcher Probenmengen ist jedoch zur Zeit enorm.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht daher darin eine Vorrichtung bereitzustellen, mit der eine Gewinnung von DNA-haltigen Proben aus einem Subjekt einfach und kostengünstig durchgeführt werden kann.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung besteht darin ein Verfahren zu liefern, mit dem Gewebe- und/oder Blutproben aus Subjekten einfach gewonnen und einem analytischen Verfahren zugeführt werden können.

Diese Aufgabe wird gelöst durch eine Vorrichtung zur Gewinnung und Erst-Aufbereitung von DNA-haltige Zellen enthaltenden Proben, die einen Probenaufnahmebehälter und Mittel zum Gewinnen der Probe umfaßt, das nach Gewinnen der Probe in den Probenaufnahmebehälter eingeführt wird und diesen dichtend verschließt, wobei der Probenaufnahmebehälter ein Bodenteil und Seitenwände aufweist, mit einem leicht durchdringbaren Deckel verschlossen ist und in einem von dem Boden entfernt liegenden Bereich der Behälterseitenwände Mittel zum Fixieren des eingeführten Probengewinnungsmittels besitzt, wobei in dem Behälter Mittel zum Schutz vor DNA abbauenden Enzymen vorgesehen sind, wobei das Mittel zum Gewinnen der Probe derart ausgestaltet ist, daß es beim Einführen in den Probenaufnahmebehälter mit den am Probenaufnahmebehälter vorgesehenen Mittel zum Fixieren ortsstabil befestigt wird und den Probenaufnahmebehälter in mindestens einen Probenraum einteilt, der durch den Boden und die Seitenwände des Probenaufnahmebehälters und das vordere Ende des Probengewinnungsmittels begrenzt wird.

Die vorstehende Aufgabe wird weiter durch ein Verfahren gelöst, bei dem unter Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit dem vorderen Ende des Probengewinnungsmittels eine geeignete Probe gewonnen und dieses in den Probenaufnahmebehälter eingeführt wird, so daß ein durch den Boden und die Seitenwände des Probenaufnahmebehälters und dem vorderen Teil des Probengewinnungsmittels begrenzter Probenraum gebildet wird, der gegenüber der Umgebung dicht abgeschlossen ist.

10 Die Erfindung wird nun anhand der beiliegenden Zeichnungen erläutert, in denen:

Fig. 1 einen Querschnitt einer Ausführungsform des Probenaufnahmebehälters 1 zeigt, in dem an dessen Boden 2 ein Vorsprung 8 ausgebildet ist. Das Probengewinnungsmittel 4 befindet sich in dem Probenaufnahmebehälter 1 und verschließt diesen dichtend. An der dem Probenraum 6,6a abgewandten Seite des Probengewinnungsmittels 4 ist eine Vertiefung 12 zur Aufnahme eines Stiftes ausgebildet.

Fig. 2 einen Querschnitt einer Anordnung Dornplatte 10 mit Dorn 10a, Lochplatte 11 mit einem mit einer Lasche 9 ausgebildeten Probenaufnahmebehälter 1 zeigt, der mit dem Probengewinnungsmittel 4 verschlossen ist, wie sie sich nach Anbringen einer Ohrmarke 10,11 und gleichzeitiger Gewinnung einer Probe darstellt.

Fig. 3 eine Seitenansicht einer aus einer Dornplatte 10 und einer Lochplatte 11 bestehenden Ohrmarke 10,11 und eines mit einer Lasche 9 versehenen Probenaufnahmebehälters 1 vor Zusammenführung durch eine geeignete Vorrichtung darstellt.

Fig. 4 schematisch eine DNA-Individual-Typisierung beim Rind zeigt.

Die Erfindung wird nun anhand bevorzugter Ausführungsformen unter Bezugnahme auf die Zeichnungen ausführlich erläutert.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung enthält einen Probenaufnahmebehälter 1 und ein Probengewinnungsmittel 2.

35 Der Probenaufnahmebehälter 1 weist einen Boden 2 und Seitenwände 3 auf und ist mit einem leicht durchdringbaren Deckel, wie einer Folie oder einer Membran verschlossen.

- Der Probenaufnahmebehälter 1 kann selbst durch weitere Membranen unterteilt werden, so daß zwei oder mehr Komponenten im Probenaufnahmebehälter 1 bis zur Anwendung voneinander getrennt vorliegen und erst durch das Einbringen des Probengewinnungsmittels 4 in den Behälter 1 miteinander und mit der Probe in Kontakt kommen. Der
- 5 Probenaufnahmebehälter 1 kann ferner durch eine Trennwand, wie einen sich über den gesamten Durchmesser des Bodens 2 erstreckenden Vorsprungs 8 in mindestens zwei Bereiche unterteilt sein, so daß bei einer Probengewinnung mindestens zwei voneinander getrennte Proben gewonnen werden können.
- 10 In einer bevorzugten Ausführungsform nimmt der Probenaufnahmebehälter 1 mindestens das vordere Ende des Probengewinnungsmittels 4 auf. Er kann im Bodenbereich 2 so ausgebildet sein, daß ein gegebenenfalls eine Kegelform aufweisender Vorsprung 8 vorhanden ist, wobei das Probengewinnungsmittel 4 zur Aufnahme des Vorsprungs 8 entsprechend angepaßt ist. Dies führt dazu, daß beim Einführen des Proben-
- 15 gewinnungsmittel 4 in den Probenaufnahmebehälters 1 die Probe durch das Zusammenpressen der beiden Teile sehr stark zerquetscht und zerkleinert und in den durch den Boden 2 und die Seitenwände 3 des Probenaufnahmebehälters 1 sowie dem vorderen Bereich 7 des Probengewinnungsmittels 4 begrenzten Probenraum 6, 6a gedrückt wird.
- 20 Der Probenaufnahmebehälter 1 kann weiter eine Haltevorrichtung 9, wie ein flach angesetztes Teil, beispielsweise eine Lasche mit einem Loch, aufweisen, um diesen entsprechend zu befestigen. So kann beispielsweise bei Verwendung einer Zange zum Anbringen der Ohrmarke 10,11 die Lasche an dieser befestigt werden. Die Lasche eignet sich weiter zur Aufnahme der Identifikationsnummer, die mit der der Ohrmarke
- 25 übereinstimmt. Die Beschriftung kann von Hand erfolgen, in dafür vorgesehene vorgeformte Rillen eingetragen werden oder durch Vorbeschriftung, z.B. Einprägung, oder mit einem Drucker gleichzeitig und identisch mit dem Anbringen der Identifikationsnummer auf einem Plattenteil der Ohrmarke 10,11 erfolgen.
- 30 Der Probenaufnahmebehälter 1 kann gegebenenfalls (z.B. für eine Weiterbearbeitung der Proben von Hand) auch so ausgebildet sein, daß der Bereich des Probenaufnahmebehälters 1, der nach Verschließen mit dem Probengewinnungsmittel 4 den Probenraum 6,6a definiert, mit dem Korpus des Probenaufnahmebehälters 1 durch ein Gewinde verbunden ist und daher leicht abgeschraubt werden kann, so daß ein leichter
- 35 Zugang zu der Probe ermöglicht wird.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird der Probenaufnahmebehälter 1 mit dem Probengewinnungsmittel 4 derart verschlossen, daß ein Öffnen des gebildeten Probenraums 6,6a ohne Zerstörung der Vorrichtung nicht möglich ist. Dadurch kann sichergestellt werden, daß eine Manipulation der einmal gewonnenen Probe, ohne daß es bemerkt wird, nicht erfolgen kann.

In dem Probenaufnahmebehälter 1 befindet sich Material zur Inaktivierung des Proteinanteils der Gewebeprobe und zur Stabilisierung der DNA.

10 Das Material zur Inaktivierung von Proteinen (Enzyme, DNAsen usw.) der Gewebeprobe und zur Stabilisierung der DNA kann beispielsweise ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus:

- 15 • Proteinase K (z.B. zur Stabilisierung während der Lagerdauer lyophilisiert) und (getrennt eingefülltem) Puffer zum Verdau von Proteinen;
- starke Lauge;
- Molekularsieb (z.B. E. Merck 0,2 nm Nr. 1.05704.0250, K 230045904 624, Wasseraufnahmevermögen > 20%), das extrem hygroskopisch ist und bei Kontakt mit der Gewebeprobe diese austrocknet (und erwärmt) und damit inaktiviert. Zum
- 20 Schutz des Molekularsiebes vor unerwünschter Aufnahme von Feuchtigkeit aus der Luft kann es z.B. mit dem Edelgas Argon überschichtet und mit einer Folie abgedeckt werden;
- anderen Bestandteilen, die die Inaktivierung des Proteinanteils und die Stabilisierung der DNA unterstützen.

25

Das Material wird so formuliert, daß es für einen langen Zeitraum, beispielsweise bis zu 1 Jahr oder länger aktiv bleibt und nach dem Einbringen der Probe zumindest für mehrere Monate bis zu einem Jahr eine hinreichende Integrität der DNA für eine analytische Untersuchung gewährt.

30

Das Probengewinnungsmittel 4 kann jede Form annehmen, mit der die Probe gewonnen und in den Probenaufnahmebehälter 1 eingeführt werden kann, wobei das Probengewinnungsmittel 4 den Probenaufnahmebehälter 1 nach Einführen dichtend verschließt. Dies schließt die Form von Zylindern, Kegeln, usw. ein.

35

In einer bevorzugten Ausführungsform besteht das Probengewinnungsmittel 4 aus zwei Teilen, die vor der Benutzung (lösbar) miteinander verbunden sind und sich beim

Benutzen voneinander trennen. Dies kann beispielsweise über eine als Sollbruchstelle ausgelegte schmale Kunststoffbrücke realisiert werden. Das Probengewinnungsmittel 4 kann massiv sein oder an dessen hinteren Ende eine Vorrichtung zur Aufnahme eines Stiftes, beispielsweise einen zentrischen Hohlraum 12, aufweisen, in den beim Benutzen ein Stahlstift einer Zange zur Stabilisierung eingeführt wird.

Das Probengewinnungsmittel 4 erfüllt mehrere Aufgaben. Mit ihm wird die Probe gewonnen, beispielsweise durch einfaches Eintauchen in Körperflüssigkeiten, wie Blut, Lymphe oder Urin oder Abkratzen und Herausstechen von Gewebe von bzw. aus dem Subjekt.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung beispielsweise Gewebe aus der Haut eines Menschen entnommen, beispielsweise ein Gewebe mit Verdacht auf Melanom.

Weiter kann mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung das Ohr eines Subjekts, insbesondere das eines Tiers durchstochen werden, wobei das vordere Ende des Probengewinnungsmittel 4 scharfkantig ausgebildet sein kann, so daß beim Durchdringen des Ohres eine kleine Gewebeprobe ausgestanzt/gequetscht wird.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das Probengewinnungsmittel zur Gewinnung der Probe mit einer geeigneten Vorrichtung, wie einer Ohrzange, gleichzeitig mit einer Ohrmarke durch das Ohr eines Subjekts gedrückt, so daß das Anbringen der Ohrmarke und die Gewinnung der Probe in einem Arbeitsgang vonstatten geht.

Die für die Markierung verwendete Ohrmarke besteht in der Regel aus zwei Teilen, einer den Dorn tragenden Platte 10 (Dornplatte) und einer Lochplatte 11, die etwa die gleiche Größe aufweist wie die Dornplatte 10 oder auch aus einer kleineren Scheibe bestehen kann, die nur groß genug sein muß um ein Herausrutschen des Dorns 10a aus dem Ohr zu verhindern. Beide Teile werden aus lebensmitteltauglichen und gewebeverträglichem Kunststoff (z.B. Polyurethan - Desmopan 795 U von Bayer) oder zum Teil aus Metall (z.B. Edelstahl, Messing, Bronze o.ä.) gefertigt.

Zum Einziehen der Ohrmarken 10,11 kann eine handelsübliche Ohrmarkenzange verwendet werden. Die meisten für diesen Zweck verfügbaren Zangen können gegebenenfalls durch ein kleines Zusatzteil sehr einfach so umgerüstet werden, so daß der Probenaufnahmebehälter 1 nach dem Einziehen der Ohrmarke 10,11 an der Zange hängen bleibt

und dadurch leicht aufgenommen werden kann. Das Zusatzteil ist beispielsweise eine kleine Noppe, über die die Lochöffnung der Lasche 9 mit dem Probenaufnahmebehälter 1 gezogen wird. Nach dem Einziehen der Ohrmarke 10,11 ins Ohr und dem gegebenenfalls ruckartigen Herausziehen der Ohrmarke 10,11 aus den Halterungen der Zange hält die Noppe die Lasche 9 mit dem Probenaufnahmebehälter 1 an der Zange fest. Anschließend kann die Lasche sehr leicht über die Noppe gezogen und damit der Probenaufnahmebehälter 1 eingesammelt werden.

Das Probengewinnungsmittel 4 verschließt den Probenaufnahmebehälter 1 durch Einführen dichtend und wird durch Befestigungsmittel 5 ortsstabil fixiert, so daß ein Ausreten von Probenmaterial und ein Eindringen von Fremdmaterial verhindert wird.

Der Probenaufnahmebehälter 1 sowie das Probengewinnungsmittel 4 können aus jedem geeigneten Material gefertigt sein, wie beispielsweise aus Metall oder aus ggf. glasfaser-
versärktem Kunststoff. Ist das Probengewinnungsmittel 4 aus Kunststoff gefertigt, so kann es beim Einziehen ins Ohr durch einen an der verwendeten Zange befindlichen innenliegenden Metallstift verstärkt werden.

Mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung wird ermöglicht, die Probenentnahme bei Tieren gleichzeitig mit der üblicherweise ohnehin durchgeführten Identifikationsmarkierung mit Ohrmarken 10,11 ohne wesentlichen zusätzlichen Aufwand durchzuführen. Die daraus resultierenden Einsparungen sind sehr hoch.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Vorrichtung gegenüber konventionellen Probenentnahme-Behältern ist die an den Probenaufnahmebehälter anschließende Haltevorrichtung 9, die die Form einer flachen Lasche annehmen, und die zur Beschriftung/Kennzeichnung der Probe verwendet werden kann. Üblicherweise muß die Beschriftung auf der meist runden Oberflächen von meist zylindrischen Gefäßen (z.B. Eppendorf Tubes) mehr oder weniger mühsam und eventuell schwer leserlich von Hand angebracht werden. Ein Einlesen dieser Nummern oder Daten und eine automatisierte Entnahme ist dabei schwer zu realisieren.

Das erfindungsgemäße System ist insbesondere dann von Vorteil, wenn Proben aus Material gewonnen werden müssen, das sich noch in einem Verbund befindet, so daß eine Probe normalerweise mit einem Gerät (Messer, scharfer Löffel, Skalpell etc.) entnommen werden muß. Bei Verwendung von wiederverwendbaren Geräten ist die Kontaminationsgefahr sehr groß, da bei der sehr sensitiven analytischen Maßnahmen, wie

PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) schon einzelne Zellen zu Kontaminationen und damit zu falsch positiven Ergebnissen führen können. Bei Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung kommen ausschließlich solche Teile mit dem Probenmaterial in Berührung, die nur einmal verwendet werden.

5

Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann auch dazu verwendet werden um beispielsweise flüssige Proben (Blut, Harn, Speichel o.ä.) zuverlässig und sicher aufzunehmen und aufzuarbeiten. In diesem Fall wird die Flüssigkeit entweder auf die Öffnung des Probenaufnahmebehälters 1 oder auf den vorderen Bereich des Probengewinnungsmittels 4 aufgebracht und anschließend beispielsweise mit einer geeigneten Vorrichtung, wie einer Zange, in den Probenaufnahmebehälter 1 eingepreßt. Auch Proben von Oberflächen (Haut, Schleimhaut etc.) können mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung sauber, zuverlässig und mit sicherer Identifikation gewonnen werden, indem der vordere Bereich des Probengewinnungsmittels 4 als "scharfer Löffel" verwendet und kurz über die Oberfläche gezogen/geschabt wird.

15

Ein wesentlicher Vorteil der Erfindung besteht darin, daß die Probenaufnahmebehälter 1 vor dem Verteilen an die Nutzer bzw. Tierbesitzer gleichzeitig mit den Ohrmarken (Dornplatte 10, Lochplatte 11) beschriftet werden können und dadurch unverwechselbar die selbe Nummerierung tragen. Die Beschriftung kann z.B. mit einem Drucker erfolgen, mit dem im Falle einer Kunststoffohrmarke ein (schwarzer) Mastermix aufgetragen wird, der sich so stabil mit dem Kunststoff verbindet, daß er bei üblichem Gebrauch nicht verwischt oder entfernt werden kann. Weiter können die entsprechenden Teile eine individuelle Zahl-Prägung aufweisen.

20

25

Die mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung gewonnenen Proben werden dann an eine zentrale Sammelstelle gebracht und dort analysiert. Das Sammeln der Probenaufnahmebehälter 1 kann ohne besondere Vorgaben hinsichtlich Temperatur und Dauer des Transportes erfolgen. Die Probenaufnahmebehälter 1 können problem- und gefahrlos per Post, Kurier oder Sammelaktion ins Labor oder Archiv transportiert werden.

30

Die Aufarbeitung der Proben im Labor - Entnahme eines Aliquots, Analyse-Reaktion und Auswertung - kann vollautomatisch mit Roboter-gesteuerten Systemen erfolgen. Die Identifikationsnummer der Proben wird dabei über ein Lesegerät erfaßt und weiterverarbeitet. Durch die Vermeidung einer Dateneingabe per Hand kann die Fehlerquote vernachlässigbar gering gehalten werden.

35

Zur Bearbeitung bzw. Analyse der DNA aus den mit den erfindungsgemäßen Vorrichtungen gesammelten Proben werden die Probenaufnahmebehälter 1 so in ein Förderband eingelegt, daß ein Lesegerät die Identität der Probe aufnehmen kann. Anschließend wird eine Kanüle durch den Boden des Probenraums 6,6a eingestochen, Flüssigkeit zur Aufnahme der Probe injiziert und anschließend ein Aliquot entnommen. Die Einstichstelle kann anschließend wieder versiegelt werden, so daß der Probenaufnahmebehälter archiviert werden kann. Wurde der Probenraum 6,6a bereits vorab in geeigneter Weise unterteilt so befinden sich in der erfindungsgemäßen Vorrichtung noch weitere, zur Analyse einsetzbare Proben.

Die DNA-Isolierung kann durch die Verwendung eines Pipettier-Roboters (beispielsweise Biomec 2000, Beckman) und der DNA-Reinigung mittels Silikon-Partikeln (z.B. InstaGene® Matrix, BIO-RAD) automatisiert werden. Die Analyse-Reaktionen mit diesen Proben können ebenfalls automatisiert erstellt werden.

Mit dem hier beschriebenen System der einfachen Gewinnung von Proben und automatisierter Analyse lassen sich folgende Vorteile erzielen:

- Fälschungssicherer Herkunfts- und Identitätsnachweis für alle Rinder und Fleisch von diesen Rindern in allen Stufen der Vermarktung und Verarbeitung bis hin zum Verzehr und damit der Nachweis der Herkunft aus BSE-freien Herkünften
- Ermöglichung der Kontrolle und damit Stabilisierung gezielter Vermarktungsprogramme wie z.B. von Tieren aus der Bioproduktion aus der Haltung in Nationalparks oder mit speziellen Gütezeichen
- Überprüfung und Überwachung der Transportwege, -zeiten und -entfernungen für alle Rindertransporte
- Effiziente Grenzkontrollen und Nachverfolgung inländischer Rinder im EU-Raum und bei internationalen Exporten
- Unverwechselbares Kennzeichen aller verkauften Zuchtrinder mit jederzeit nachweisbarer Identität z.B. bei Auktionen, Ausstellungen etc.
- Lückenloser Abstammungsnachweis für alle geborenen Rinder und Aufdeckung von Fehl- oder Falschbelegungen
- Unzweifelhafte forensische Nachweise (auch noch bei verzehrtem Rindfleisch aus Mageninhalt in der Gerichtsmedizin)
- Unzweifelhafte Überwachung von Keulungsmaßnahmen und bei Seuchensanierungen
- Feststellung der Beimengungen von Rindfleisch in allen zur Untersuchung vorgelegten (verarbeiteten) Lebensmitteln, einschließlich Heimtierfutter

- Aufdeckung der Identität von Produzenten von Schlachtkörpern, in denen im Rahmen von Stichprobenuntersuchungen Behandlungen mit unerlaubten Hormonen oder Wachstumsförderern vorgenommen worden sind
- Herkunftsnachweis bei anderen Produkten aus der Rinderhaltung wie Fellen, Knochen, Hörnern, Klauen, Organpräparationen, Blut etc.
- Nachweis und Kontrolle der Tier- und Bestandsherkunft bei direkt vermarkteter Milch und Milchprodukten
- Exakte Erfassung aller Rinderbestände und Vermarktungswege
- Proben für detaillierteste Analysen von DNA-Polymorphismen, genetische Distanzmessungen und genetische Screening-Programme würden zur Verfügung stehen
- Optimierung von Zuchtprogrammen
- Genetische Distanzmessungen
- Untersuchung der genealogischen und zuchthistorischen Entwicklung von Tierrassen
- Analysen im Rahmen Marker-gestützter-Selektionsprogramme (MAS)
- exakte Aussagen über die Präsenz und Häufigkeit bestimmter Erbfehlerallele

Aus forensischer Sicht hat die hier beschriebene Vorrichtung und das hier beschriebene Verfahren weiter den Vorteil, daß eine einmal eingepackte Probe nicht mehr verändert (ausgetauscht, verfälscht) werden kann, ohne daß die dazu notwendige Manipulation des Probenaufnahmebehälters erkennbar sein würde.

Durch Sammeln und Katalogisieren der gewonnenen Proben wird weiter eine Individualisierung, ein Herkunftsnachweis, Erbfehler-Screening, Populationsanalysen, Mutationsdetektion, sowie Lebensmittel-Screening, Diagnostik von Krankheitserregern, Transgenitätsdiagnostik, Überwachung der Hygienesituation in Betrieben der Lebensmittelver- und bearbeitung usw. ohne großen Aufwand ermöglicht.

Mit dem hier beschriebenen System wird ein Nachweis über die genetische Information, die nicht nur alle Tiere sondern auch die aus Tieren erstellten Produkte bis zum Verzehr enthalten, möglich. Mit der hier beschriebenen Vorrichtung können die normalerweise damit einhergehenden Kosten um ein Vielfaches gesenkt werden.

So kann sogar in intensiv bearbeiteten Lebensmitteln tierischen Ursprungs (Brühwürste, Bratenfleisch, Leberkäse, Schnitzel etc.) noch spezies- und individualspezifische DNA nachgewiesen werden. Dadurch wird ermöglicht, Kontaminationen von Lebensmitteln mit fremden Fleischanteilen nachzuweisen. Natürlich ist es mit Hilfe dieser Methoden auch möglich, zweifelsfrei zu beweisen, daß bestimmte Lebensmittel - wie angegeben -

von einem bestimmten Tier stammen, wenn von dem lebenden Tier im Herkunftsbetrieb eine geeignete (Erst)Probe gezogen worden ist (Abb. 3).

5 Dazu muß von jedem geborenen Nutztier eine Ohrgewebeprobe für die DNA-Typisierung gewonnen und an das Typisierungs-Zentrum übermittelt werden. Dort werden mittels (automatisierter) PCR DNA-Fingerprints mit Mikrosatelliten-Primern erstellt und so ein unverwechselbares Muster für jedes einzelne Tier erfaßt.

Diese Daten werden in einer Zentraldatei gespeichert und sind erschließbar über:

10

- den bei einer Kontrolluntersuchung aufgetretenen Fingerprint, d.h. bei Einsendung einer "Zweitprobe" kann nach der DNA-Typisierung durch Vergleich mit den Fingerprints aus der "Erstuntersuchung" das dazugehörige Tier herausgefunden werden. Dieses Ergebnis kann normalerweise innerhalb eines Tages bereitgestellt werden. In Extremfällen z.B. bei Tiertransporten oder Grenzkontrollen kann innerhalb von drei Stunden eine Express-Auskunft erteilt werden.
- 15 • die Tiernummer, d.h. von jedem erfaßten Tier sind der DNA-Fingerprint und alle anderen Daten abrufbar
- den Tierbesitzer, d.h. alle von einem Besitzer bzw. einer Herde vermarkteten Tiere können gepoolt werden
- 20 • die Eltern des Tieres, d.h. nach einer mehrjährigen Erfassung aller geborenen Rinder kann über die Datei automatisch die Elternschaft und auch die Zahl der Nachkommen pro Eltern überprüft werden.

25

Eine Individualtypisierung von Nutztieren einer ganzen Population ist ein Novum. Jeder Konsument, Gast, Kunde, Händler, Metzger, Verarbeiter, Besitzer oder Kontrolleur usw. könnte die Identität und damit Herkunft eines Tieres oder Tierproduktes überprüfen lassen (Fig. 4). Notwendig für diese Überprüfung ist lediglich die Entnahme einer Zweit-Probe aus beispielsweise dem Schlachthof, dem Supermarkt und sogar aus dem bereits zubereiteten Mahl (beispielsweise einem im Restaurant aufgetischten Wiener Schnitzel oder Tafelspitz).

30

Bei lebenden Tieren z.B. bei der Überwachung der Tiergerechtheit von Transporten (Entfernung) wären ebenfalls eine Typisierung unzweifelhaft zu ermöglichen. Dieses Maximum an Sicherheit bei der Überprüfung wird automatisch zur Folge haben, daß bei 35 ausreichend großer Überprüfungsfrequenz Betrugsversuche wegen der Furcht vor einem

zuverlässigen und gerichtlich einwandfreien Nachweis- bzw. Aufdeckungsmöglichkeit vorab bereits auf ein Minimum reduziert werden.

Bei allen zukünftig möglicherweise noch auftretenden Anordnungen der Überwachung von bestimmten Gruppen von Tieren oder Beständen aufgrund von Risikoabwendungen, Seuchenüberwachung oder Überprüfung von unerlaubten Rückständen (Hormone, Wachstumsbeschleuniger etc.) in Tierkörpern könnte anhand der dann bereits vorhandenen DNA-Daten ad hoc vorgegangen werden.

10 Wenn diese Individualtypisierung mit dem hier beschriebenen System in einem Land konsequent praktiziert wird, wird man bei auftretenden Problemen (z.B. BSE-Verdacht bei einem Tier, Ausbruch der Schweinepest in einem Betrieb etc.) jederzeit in der Lage sein, jeweils unmittelbar, d.h. noch am selben Tag, zu reagieren und damit für die Verbraucher einen einzigartigen Schutz oder für die Überwachung eine einzigartige
15 Kontrollmöglichkeit zu bieten.

Insbesondere könnte z.B. durch die Individualtypisierung auch lückenlos und zweifelsfrei bewiesen werden, daß Tiere und Produkte aus alternativer Produktion wirklich dorthier stammen. Das bedeutet, daß jeder Kunde auch noch nach weitläufigsten Transporten und
20 Vermarktungen des Fleisches durch Einsendung von Proben (Zweitprobe) eine Überprüfung der das Fleisch begleitenden Informationen veranlassen könnte.

Die Erfindung wird nun anhand von Beispielen näher erläutert, die nicht zur Begrenzung der in den Ansprüchen niedergelegten Erfindung gedacht sind.

25

Beispiel 1

Individualtypisierung beim Rind

30 Ein Rind wurde mit herkömmlichen Ohrmarken gekennzeichnet. Auf den Dorn der Dornplatte wurde das Probengewinnungsmittel aufgesetzt, das die Form eines zu dem vorderen Ende hin konisch zulaufenden Kegels mit einem zylindrischen Basisteil und einer Vertiefung im Basisteil zur Aufnahme des Dorns der Dornplatte ausgebildet war.

35 An der Zange wurde zudem der mit einer Lasche einstückig ausgebildete Probenaufnahmebehälter unter der für die Lochplatte vorgesehenen Position derart angeordnet, daß

der aus einer Kunststoffolie bestehende Deckel des Probenaufnahmebehälter mit dem Loch der Lochplatte ausgerichtet war.

Die Lasche wies an einer von dem Ort der Probenaufnahmebehälter entfernt liegenden
5 Stelle ein Durchgangsloch zur ortstabilen Befestigung der Lasche an der Zange auf.

Durch Hindurchdrücken des mit dem Probengewinnungsmittel versehenen Dorns der Dornplatte durch das Ohr des Rindes wurde die dabei aus dem Ohr ausgestanzte Gewebeprobe in dem Probenaufnahmebehälter gedrückt. Das Probengewinnungsmittel
10 wurde durch auf den Innennänden des im Probenaufnahmebehälter vorgesehenen Vorsprüngen nach dem Einführen fixiert, wobei der gebildete Probenraum dichtend verschlossen wurde.

In dem Probenaufnahmebehälter befand sich ein Molekularsieb (Merck 0,2 nm Nr. 1.05704.0250), das die DNA der aufgenommenen Gewebeprobe vor einem Abbau
15 schützt.

Mit dem in dem Probenaufnahmebehälter vorhandenen genetischen Material konnte nach einem halben Jahr Lagerung problemlos DNA-Footprints, sowie PCR-Analysen auf
20 bekannte Gene durchgeführt werden.

Beispiel 2

Screen-out von funktionellen Mutanten zur Zucht spezieller Linien (z.B. von
25 1.3Gal α Gal3 negativen Schweinen für die Xenotransplantation

In einer genügend großen Population beinhaltet jedes im Genom vorhandene Gen, bedingt durch die bekannte natürliche Mutationsrate, bei einzelnen Individuen nicht nur verschiedene Silent-Mutationen, sondern mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auch
30 Mutationen, die eine Inaktivität des Allels zur Folge haben. In der Mehrzahl dieser Fälle handelt es sich dabei nicht um dominante sondern um rezessive Mutationen. Gemäß Hardy-Weinberg-Regel ist die überwiegende Zahl dieser mutationsbedingten Veränderungen im Genotyp von heterozygoten Individuen maskiert.

35 Entscheidend ist, durch geeignete molekulargenetische Analysen des entsprechenden Genortes in den vorhandenen Schweine-Populationen in einem Screening-Verfahren ein (einziges) heterozygoten Anlageträgartier, das eine inaktivierende Mutation enthält, zu

entdecken. Mit diesem Tier kann dann eine homozygot negative Linie aufgebaut werden, die den gleichen gewünschten und benötigten Gendefekt aufweisen würde, wie eine durch Gen-Knock-out generierte Linie. Sie würde dieser in nichts nachstehen.

- 5 Die vorgeschlagene Vorgehensweise entspricht gewissermaßen dem Screenen einer Stammzelllinie nach Rekombination mit einem geeigneten Konstrukt, das keinen selektiven Marker enthält. Der Unterschied ist folgender: Alle Zellen einer Stammzelllinie haben den gleichen Genotyp mit Ausnahme derjenigen, die nach dem einmaligen Mutationsereignis eine Veränderung bzw. Rekombination aufweisen. Beim
- 10 Screenen von Schweinepopulationen sind alle analysierten Genotypen verschieden. Sie sind nicht gezielt mutagenisiert worden, tragen aber Mutationen, die sich im Laufe der Evolution und züchterischen Bearbeitung angehäuft haben (soweit sie im heterozygoten Zustand keinem negativen selektiven Druck ausgesetzt waren).
- 15 Es ist bekannt, daß es quantitative Unterschiede bei der 1.3Gal α Gal3 Expression gibt. Da die Mutationsanalyse darauf gerichtet ist, in den diversen Populationen schon vorhandene Mutationen zu finden, werden Zuchttiere untersucht. Vernachlässigt man Neumutationen, dann können Mastschweine nur Mutationen tragen, die bei den Zuchteltern schon vorhanden sind. Für die praktische Durchführung ist die Asservierung
- 20 und Sammlung der Gewebeproben mit dem Typi-Fix-System ein entscheidender Faktor für den Erfolg bzw. eine finanziell machbare Realisierung. Bei der Analyse zur Suche nach Mutationsträgern muß davon ausgegangen werden, daß möglicherweise bis zu 100.000 Genotypen untersucht werden müssen, um potentielle Tiere mit einer 1.3GalaGal Defizienz zu finden. Für das im Prinzip sehr aufwendige Sammeln der
- 25 Individualproben von 100.000 Schweinen ist das erfindungsgemäße System das Verfahren der Wahl. Die Proben brauchen nur noch (per Post oder durch Sammelaktionen) ins Labor transportiert und dort weiterbearbeitet zu werden.

Patentansprüche

5

1. Vorrichtung zur Gewinnung und Erst-Aufbereitung von DNA-haltige Zellen enthaltenden Proben, umfassend

10 einen Probenaufnahmebehälter (1) und Mittel zum Gewinnen der Probe (4), das nach Gewinnen der Probe in den Probenaufnahmebehälter eingeführt wird und diesen dichtend verschließt, wobei

15 der Probenaufnahmebehälter (1) ein Bodenteil (2) und Seitenwände (3) aufweist, mit einem leicht durchdringbaren Deckel verschlossen ist und in einem von dem Boden entfernt liegenden Bereich der Behälterseitenwände Mittel (5) zum Fixieren des eingeführten Probengewinnungsmittels besitzt, wobei in dem Behälter Mittel zum Schutz

20 vor DNA abbauenden Enzymen vorgesehen sind, das Probengewinnungsmittel (4) derart ausgestaltet ist, daß es beim Einführen in den Probenaufnahmebehälter (1) mit den am Probenaufnahmebehälter vorgesehenen Mittel zum Fixieren (5) ortsstabil befestigt wird und den Probenaufnahmebehälter in mindestens einen Probenraum (6, 6a) einteilt, der durch den Boden (2) und die Seitenwände (3) des Probenaufnahmebehälters (1) und das vordere Ende des Probengewinnungsmittels (7) begrenzt wird.

25 2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei der durchdringbare Deckel des Probenaufnahmebehälters eine Folie oder eine wasserundurchlässige Membran ist.

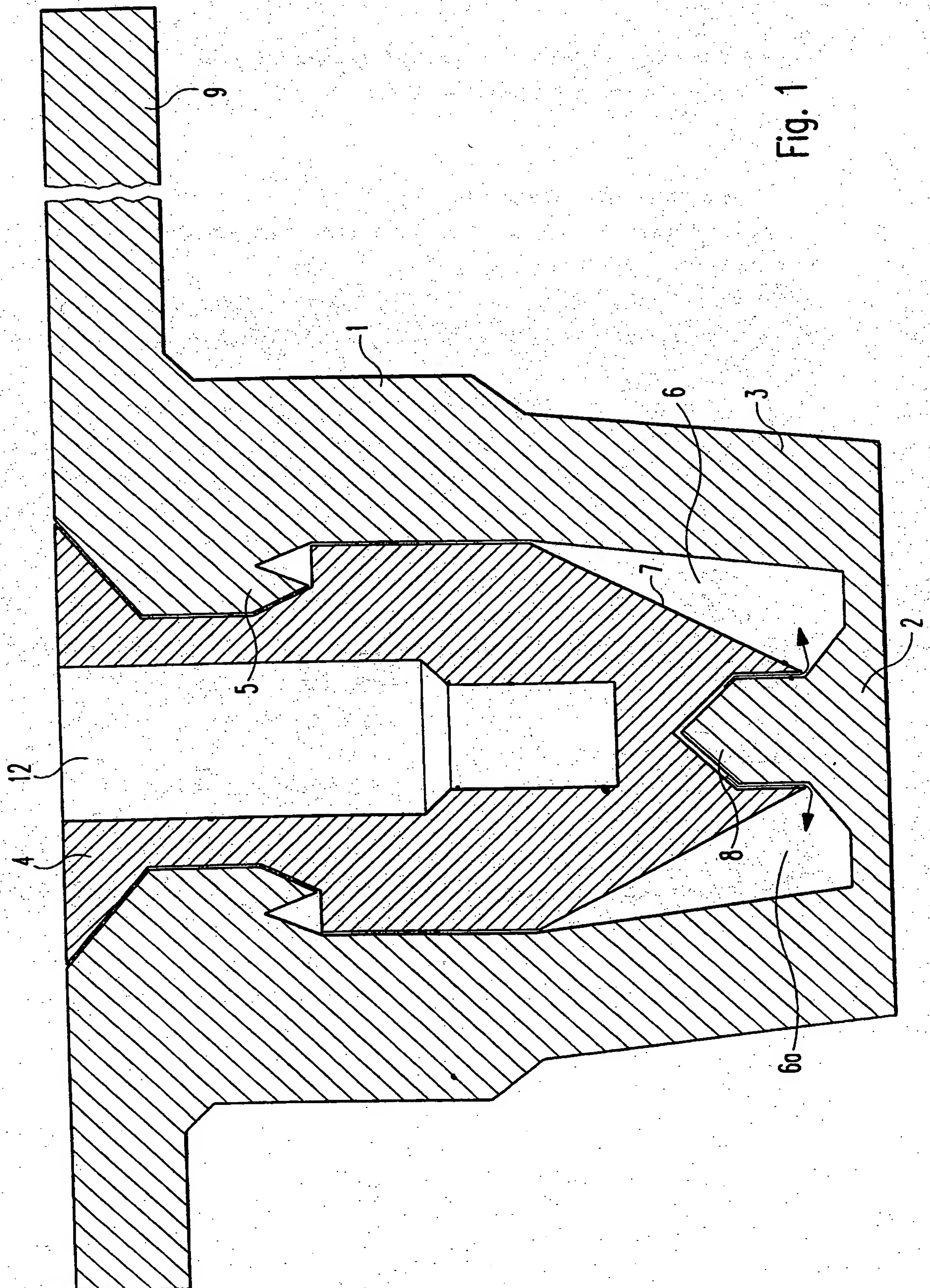
30 3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Mittel zum Schutz vor DNA-abbauenden Enzymen, Lauge, Proteinase K oder Molekularsieb ist.

35 4. Vorrichtung nach Anspruch 3, wobei die Proteinase K von einem geeigneten Puffer durch eine Membran getrennt ist, die beim Einführen des Probengewinnungsmittels zerstört wird, so daß die Proteinase K mit dem Puffer in Kontakt gebracht wird.

5. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Probengewinnungsmittel (4) sich am vorderen Ende verjüngt.

6. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei das Probengewinnungsmittel (4) am vorderen Ende mindestens eine scharfe Kante aufweist.
- 5 7. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei am Boden (2) des Probenaufnahmebehälters (1) ein in den Behälterinnenraum ragender Vorsprung (8) bereitgestellt wird und das Probengewinnungsmittel (4) an dessen vorderen Ende (7) zur Aufnahme des Vorsprungs angepaßt ist, so daß das von dem
10 Probengewinnungsmittel (4) eingebrachte Probenmaterial zwischen dem Vorsprung (8) und dem Probengewinnungsmittel (4) zerkleinert wird.
8. Vorrichtung nach Anspruch 7,
wobei der Vorsprung (8) mit den Seitenwänden (3) des Probenaufnahmebehälters (1)
15 derart verbunden ist, daß nach Einführen eines entsprechend angepaßten Probengewinnungsmittels (4) der Probenaufnahmebehälter (1) in 2 Probenräume (6, 6a) unterteilt wird.
9. Vorrichtung nach Anspruch 7 oder 8,
20 wobei der Vorsprung (8) eine Kegelform umfaßt.
10. Vorrichtung nach Anspruch einem der Ansprüche 7 bis 9,
wobei der Vorsprung (8) eine den Probenaufnahmebehälter in 2 Bereiche unterteilende
25 Wand ist.
11. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei der Probenaufnahmebehälter (1) an einer Haltevorrichtung (9) befestigt ist.
12. Vorrichtung nach Anspruch 10, wobei die Haltevorrichtung (9) eine Lasche ist.
30
13. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei das Probengewinnungsmittel an dessen hinterem Ende zur Aufnahme eines Stiftes ausgebildet ist.
- 35 14. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei das Probengewinnungsmittel (1) lösbar mit einer Dornplatte (10) einer Ohrmarke verbunden ist.

15. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
wobei der Probenaufnahmebehälter lösbar mit einer Lochplatte (11) einer Ohrmarke
5 verbunden ist.
16. Vorrichtung nach Anspruch 14 oder 15,
wobei die Ohrmarke (10, 11) und der Probenaufnahmebehälter (1) mit der gleichen
Identifikationsnummer versehen sind.
- 10 17. Verfahren zur Gewinnung einer DNA-haltige Zellen enthaltenden Probe aus einem
Tier,
wobei mit dem vorderen Ende (7) des Probengewinnungsmittels (4) eine geeignete Probe
gewonnen und dieses in den Probenaufnahmebehälter (1) eingeführt wird, so daß ein
15 durch den Boden (2) und die Seitenwände (3) des Probenaufnahmebehälters (1) und dem
vorderen Teil (7) des Probengewinnungsmittels (4) begrenzter Probenraum (6, 6a)
gebildet wird, der gegenüber der Umgebung dicht abgeschlossen ist.
18. Verfahren nach Anspruch 17,
20 wobei das Probengewinnungsmittel (4) einer geeigneten Vorrichtung durch das Ohr eines
Tiers gedrückt und in den Probenaufnahmebehälter (1) geführt wird.
19. Verfahren nach Anspruch 18,
wobei gleichzeitig eine Ohrmarkierung des Tiers durchgeführt wird.
- 25 20. Verfahren zur Typisierung von Tierpopulationen,
wobei Proben mit einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 16 gewonnen, in
einem Labor analytisch untersucht und katalogisiert werden.
- 30 21. Verwendung einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 16 zur Gewinnung
einer DNA-haltige Zellen enthaltenden Probe aus einem Tier.



2/4

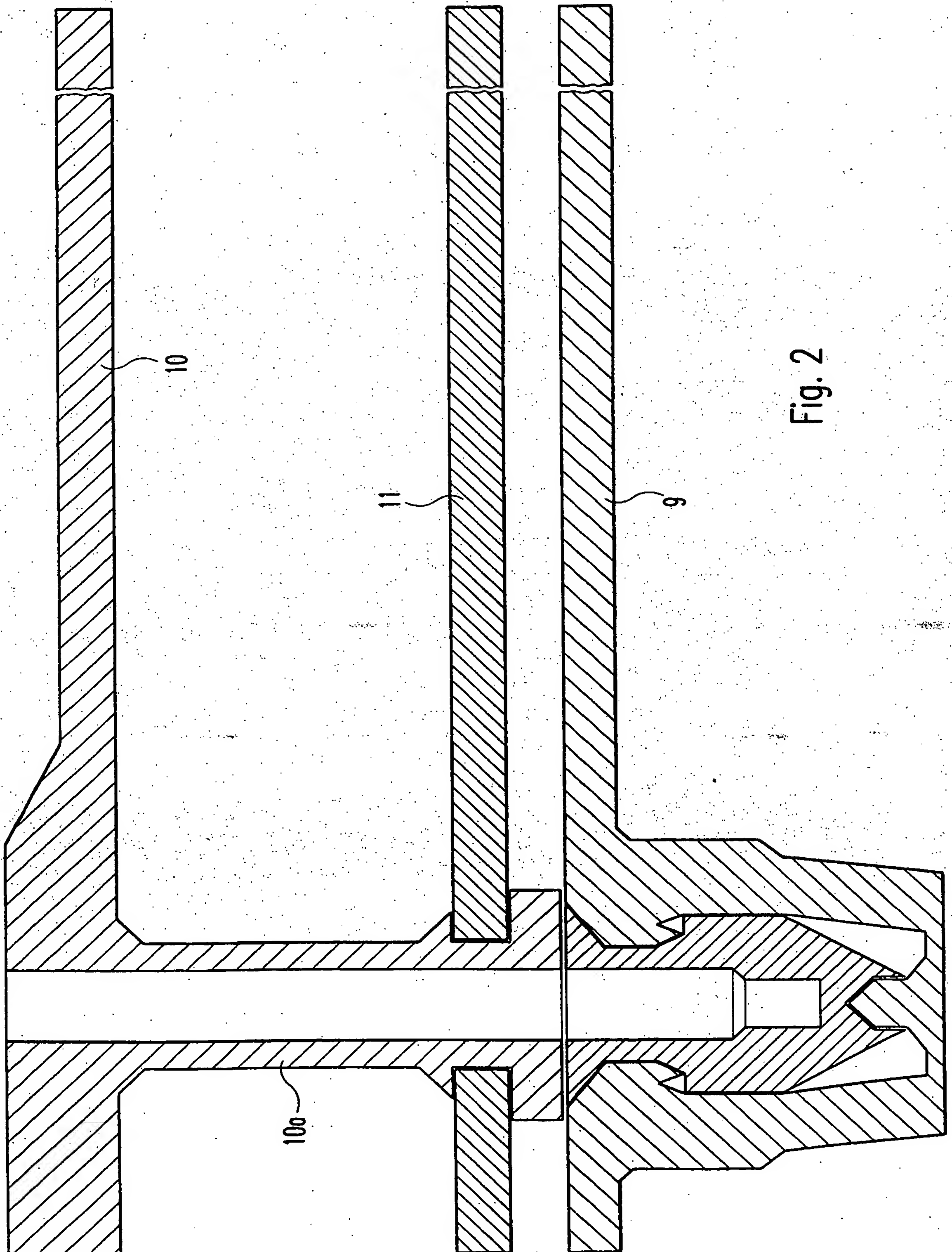


Fig. 2

ERSATZBLATT (REGEL 26)

3/4

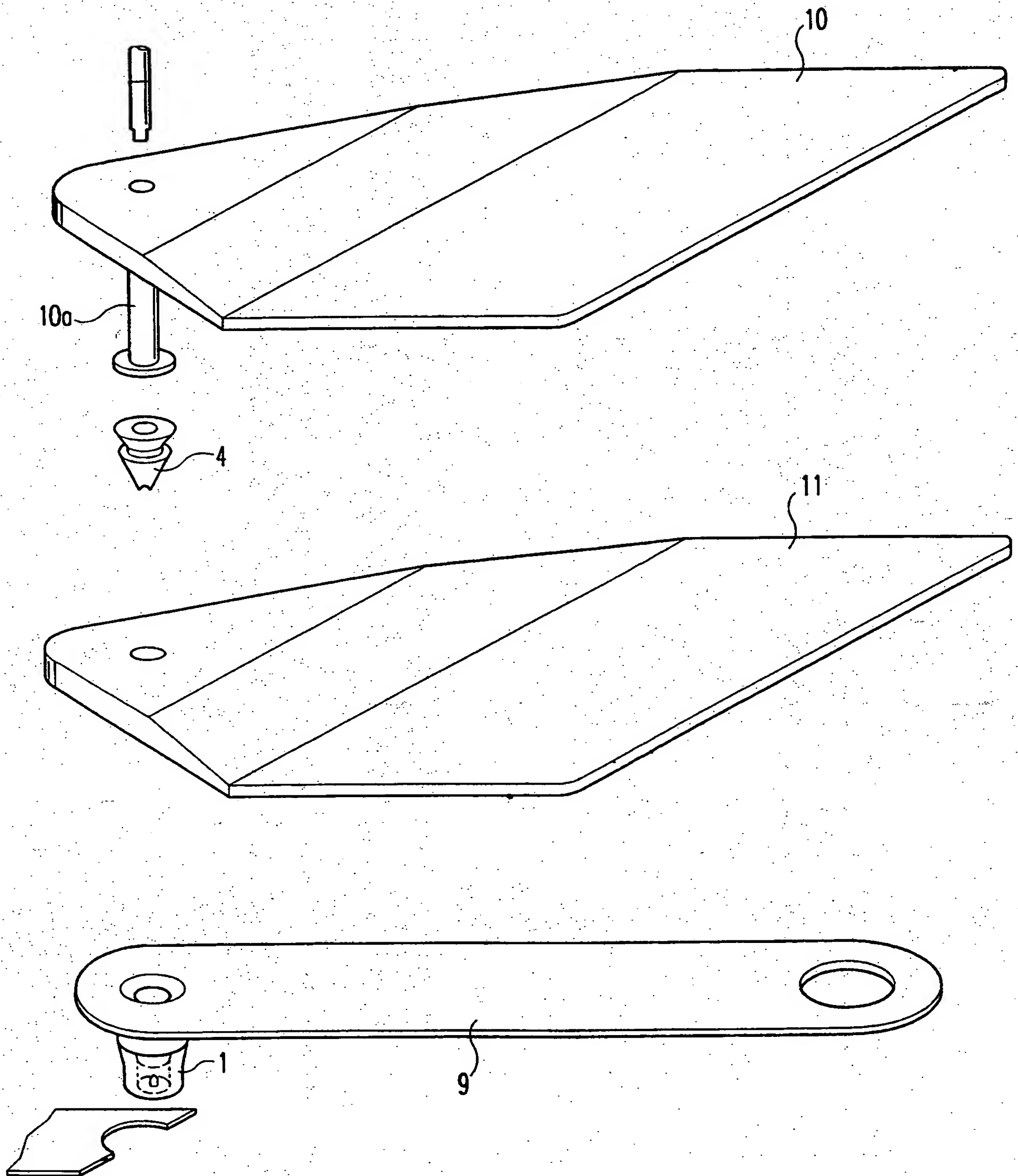
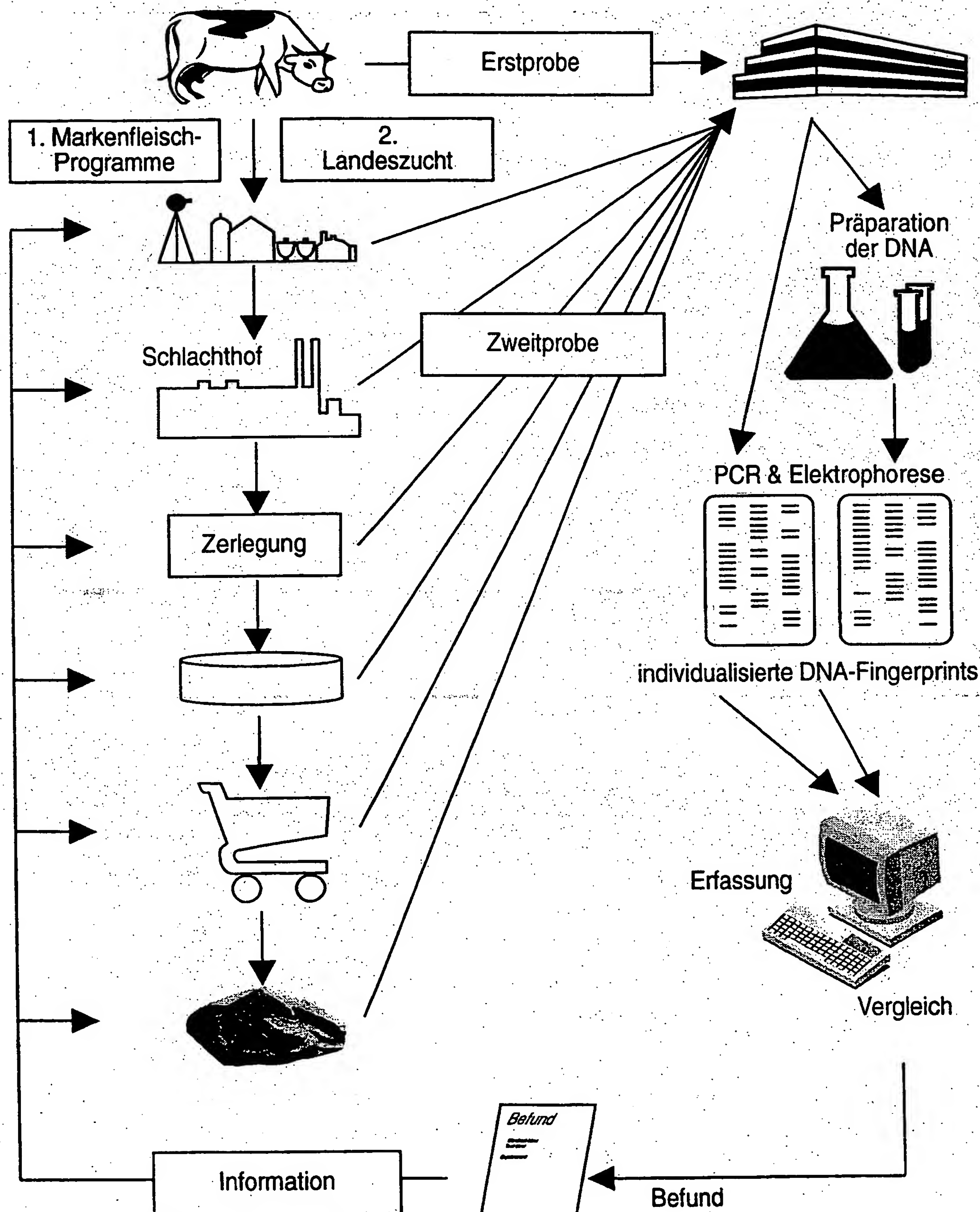


Fig. 3

ERSATZBLATT (REGEL 26)

Fig. 4

DNA-Individual-Typisierung Rind



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/03075

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 G01N1/08 //C12Q1/68,A22B5/00,G01N33/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N A61D A61B A22B C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 96 13214 A (BOSTON SCIENT CORP) 9 May 1996 see the whole document ---	1,5,6, 13,17,21
A	US 5 126 276 A (FISH FALK ET AL) 30 June 1992 see column 3, line 53 - column 4, line 16 see column 5, line 7 - column 5, line 14 see column 8, line 26 - column 8, line 50 see figure 2 ---	1,2,5,6, 17,21
A	US 5 741 177 A (ROBERTS DENIS WILLIAM ET AL) 21 April 1998 see the whole document ---	1,5,6
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 January 1999

Date of mailing of the international search report

29/01/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No

PCT/EP 98/03075

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 396 898 A (BITTMANN PETER ET AL) 14 March 1995 see column 2, line 27 -- column 4, line 3 see figures 1-5 ---	1,6
A	US 4 230 001 A (NOLL ERWIN ET AL) 28 October 1980 see column 1, line 61 - column 2, line 19 see column 4, line 18 - column 4, line 68 see figure 1 ---	14,15, 18,19
X	EP 0 734 768 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 2 October 1996	17
A	see page 3, line 14 - page 4, line 9 see page 4, line 52 - page 5, line 58	1,3-5
A	see page 6, line 19 - page 6, line 36 see figures 1,2 ---	13
A	GB 2 137 340 A (DICKEY JOHN CORP) 3 October 1984 -----	1,5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/03075

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9613214 A	09-05-1996	CA 2202613 A EP 0841874 A JP 10507952 T	09-05-1996 20-05-1998 04-08-1998
US 5126276 A	30-06-1992	FR 2573872 A JP 2113976 C JP 8023558 B JP 61181965 A	30-05-1986 06-12-1996 06-03-1996 14-08-1986
US 5741177 A	21-04-1998	AU 681962 B AU 2328295 A NZ 272451 A	11-09-1997 08-02-1996 24-11-1997
US 5396898 A	14-03-1995	EP 0590219 A JP 7246085 A	06-04-1994 26-09-1995
US 4230001 A	28-10-1980	NONE	
EP 0734768 A	02-10-1996	DE 29505652 U DE 19512360 A EP 0734767 A EP 0734769 A JP 8278312 A JP 8278239 A JP 8278234 A NO 961270 A	25-04-1996 02-10-1996 02-10-1996 02-10-1996 22-10-1996 22-10-1996 22-10-1996 01-10-1996
GB 2137340 A	03-10-1984	US 4534229 A AU 565162 B AU 2368184 A BR 8401346 A CA 1216458 A DE 3410554 A DK 106084 A FR 2543296 A GB 2185319 A,B JP 59174734 A	13-08-1985 10-09-1987 27-09-1984 30-10-1984 13-01-1987 27-09-1984 25-09-1984 28-09-1984 15-07-1987 03-10-1984

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/03075

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 G01N1/08 //C12Q1/68, A22B5/00, G01N33/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 G01N A61D A61B A22B C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 96 13214 A (BOSTON SCIENT CORP) 9. Mai 1996 siehe das ganze Dokument	1,5,6, 13,17,21
A	US 5 126 276 A (FISH FALK ET AL) 30. Juni 1992 siehe Spalte 3, Zeile 53 - Spalte 4, Zeile 16 siehe Spalte 5, Zeile 7 - Spalte 5, Zeile 14 siehe Spalte 8, Zeile 26 - Spalte 8, Zeile 50 siehe Abbildung 2	1,2,5,6, 17,21
A	US 5 741 177 A (ROBERTS DENIS WILLIAM ET AL) 21. April 1998 siehe das ganze Dokument	1,5,6



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

21. Januar 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

29/01/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Koch, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/03075

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 396 898 A (BITTMANN PETER ET AL) 14. März 1995 siehe Spalte 2, Zeile 27 - Spalte 4, Zeile 3 siehe Abbildungen 1-5 ---	1,6
A	US 4 230 001 A (NOLL ERWIN ET AL) 28. Oktober 1980 siehe Spalte 1, Zeile 61 - Spalte 2, Zeile 19 siehe Spalte 4, Zeile 18 - Spalte 4, Zeile 68 siehe Abbildung 1 ---	14,15, 18,19
X	EP 0 734 768 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 2. Oktober 1996	17
A	siehe Seite 3, Zeile 14 - Seite 4, Zeile 9 siehe Seite 4, Zeile 52 - Seite 5, Zeile 58	1,3-5
A	siehe Seite 6, Zeile 19 - Seite 6, Zeile 36 siehe Abbildungen 1,2 ---	13
A	GB 2 137 340 A (DICKEY JOHN CORP) 3. Oktober 1984 -----	1,5

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/03075

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9613214 A	09-05-1996	CA 2202613 A EP 0841874 A JP 10507952 T	09-05-1996 20-05-1998 04-08-1998
US 5126276 A	30-06-1992	FR 2573872 A JP 2113976 C JP 8023558 B JP 61181965 A	30-05-1986 06-12-1996 06-03-1996 14-08-1986
US 5741177 A	21-04-1998	AU 681962 B AU 2328295 A NZ 272451 A	11-09-1997 08-02-1996 24-11-1997
US 5396898 A	14-03-1995	EP 0590219 A JP 7246085 A	06-04-1994 26-09-1995
US 4230001 A	28-10-1980	KEINE	
EP 0734768 A	02-10-1996	DE 29505652 U DE 19512360 A EP 0734767 A EP 0734769 A JP 8278312 A JP 8278239 A JP 8278234 A NO 961270 A	25-04-1996 02-10-1996 02-10-1996 02-10-1996 22-10-1996 22-10-1996 22-10-1996 01-10-1996
GB 2137340 A	03-10-1984	US 4534229 A AU 565162 B AU 2368184 A BR 8401346 A CA 1216458 A DE 3410554 A DK 106084 A FR 2543296 A GB 2185319 A,B JP 59174734 A	13-08-1985 10-09-1987 27-09-1984 30-10-1984 13-01-1987 27-09-1984 25-09-1984 28-09-1984 15-07-1987 03-10-1984

